

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
1. Mai 2003 (01.05.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/036266 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
1/04, G02B 21/26

G01N 1/28,

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): P.A.L.M. MICROLASER TECHNOLOGIES AG
[DE/DE]; Am Neuland 12, 82347 Bernried (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/11073

(72) Erfinder; und

(22) Internationales Anmeldedatum:
2. Oktober 2002 (02.10.2002)

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHÜTZE, Karin
[DE/DE]; Lange Str. 8a, 82327 Tutzing (DE).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(74) Anwalt: BANZER, Hans-Jörg; Kraus & Weisert,
Thomas-Wimmer-Ring 15, 80539 München (DE).

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

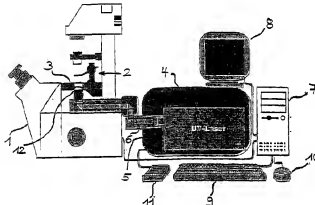
(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,

(30) Angaben zur Priorität:
101 52 404.8 24. Oktober 2001 (24.10.2001) DE

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: LASER MICRODISSECTION SYSTEM

(54) Bezeichnung: LASER-MIKRODISSEKTIONSSYSTEM



(57) Abstract: The invention relates to a laser microdissection system provided, in particular, for processing a biological material (14) located on a support (3) with a laser beam. Said system comprises a laser (4), a microscope (1) with a camera for generating a microscope or video image of the biological material located on the support (3), and a display screen (8) for displaying the recorded video image. Appropriate input means (9, 10) are used in order to be able to select, on the video image displayed on the display screen (8), a desired biological object (15) to be processed with a laser beam and to assign it to a corresponding object group. In particular, it is possible to mark the biological objects (15) on the video image in different colors, whereby the biological objects marked with one and the same color form a common object group. The control unit (7) of the laser microdissection system, which can be provided in the form of a computer, automatically generates a list in which the individual selected objects and a comprehensive representation (29) of the object groups is contained. The objects contained in the list can be individually selected for a laser processing. A separate selection of individual object groups is likewise possible in order to be able to process the objects, which are combined to form the corresponding object groups, in succession with an appropriate laser function.

(57) Zusammenfassung: Ein Laser-Mikrodissektionssystem, welches insbesondere zur Bearbeitung eines auf einem Träger (3) befindlichen biologischen Materials (14) mit einem Laserstrahl vorgesehen ist, umfasst einen Laser (4), ein Mikroskop (1) mit einer Kamera zur Erzeugung eines Mikroskop- oder Videobilds des auf dem Träger (3) befindlichen

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 03/036266 A1



KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

SE, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, MI, MR, NF, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT,

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

biologischen Materials und einen Bildschirm (8) zur Darstellung des aufgenommenen Videobilds. Mit Hilfe geeigneter Eingabemittel (9, 10) kann auf dem auf dem Bildschirm (8) dargestellten Videobild ein gewünschtes, mit dem Laserstrahl zu bearbeitendes biologisches Objekt (15) ausgewählt und einer entsprechenden Objektgruppe zugeordnet werden. Insbesondere ist eine Markierung der biologischen Objekte (15) auf dem Videobild in unterschiedlichen Farben möglich, wobei die jeweils in ein und derselben Farbe markierten biologischen Objekte eine gemeinsame Objektgruppe bilden. Die Steuerung (7) des Laser-Mikrodissektionssystems, welche in Form eines Computers realisiert sein kann, erstellt automatisch eine Liste, in welcher einerseits die einzelnen ausgewählten Objekte und andererseits eine zusammenfassende Darstellung (29) der Objektgruppen enthalten ist. Die in der Liste enthaltenen Objekte können für eine Laserbearbeitung einzeln ausgewählt werden. Ebenso ist eine separate Auswahl der einzelnen Objektgruppen möglich, um die in den entsprechenden Objektgruppen zusammengefassten Objekte nacheinander mit einer geeigneten Laserfunktion bearbeiten zu können.

5

LASER-MIKRODISSEKTIONSSYSTEM

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Laser-Mikrodissektionssystem zur Bearbeitung einer biologischen oder auch nicht-biologischen Masse, insbesondere ein
10 Laser-Mikrodissektionssystem zur Bearbeitung, Separierung und/oder Gewinnung von mikroskopisch kleinen biologischen und/oder nicht-biologischen Objekten einer biologischen bzw. nicht-biologischen Masse.

15

Ein derartiges herkömmliches Laser-Mikrodissektionssystem der Anmelderin ist beispielsweise aus der WO 97/29355 A oder WO 01/73398 A bekannt. Mit den in diesen Druckschriften beschriebenen Laser-Mikrodissektionssystemen können einzelne
20 biologische oder nicht-biologische Objekte, welche auf einem planaren Träger angeordnet sind, rechnergestützt selektiert und mit einem Laserstrahl bearbeitet werden. Dabei kann ein selektiertes Objekt von der umgebenden Masse beispielsweise mit Hilfe des Laserstrahls rechnergestützt abgetrennt werden,
25 um das jeweils selektierte Objekt von der umgebenden Masse frei zu präparieren. Anschließend kann das frei präparierte Objekt durch einen Laser-induzierten Transportprozess mit Hilfe eines Laserschusses, welcher auf das frei präparierte Objekt gerichtet wird, von dem Träger zu einer Auffangvorrichtung katapultiert werden. Als Träger kann beispielsweise
30 eine Polymerfolie verwendet werden.

Das zuvor beschriebene Verfahren ermöglicht die Separierung, Sortierung und Gewinnung sowohl von biologischen Objekten als

- 2 -

auch von nicht-biologischen Objekten. Im Rahmen der vorliegenden Patentanmeldung werden unter dem Begriff „biologische Objekte“ vor allem lebende oder fixierte biologische Zellen oder Zellbestandteile verstanden, welche Bestandteil eines flüssigen oder festen biologischen Materials, wie beispielsweise eines Zellgewebes, eines Abstriches oder einer Zellkultur etc., sind. Mit Hilfe des zuvor beschriebenen Verfahrens können die jeweils selektierten Objekte gezielt mit einer ausgewählten Substanz durch berührungslose Laser-Mikroinjektion beladen und anschließend die erfolgreich injizierten biologischen Objekte aussortiert werden. Die biologischen Objekte können nebeneinander auf einem festen planaren Träger aufgebracht sein, wobei der Vorgang des Absonderns innerhalb kurzer Zeit und berührungslos durchgeführt werden kann. Die Überlebensfähigkeit bzw. die Morphologie der biologischen Objekte wird gewährleistet, d.h. die biologischen Objekte werden durch den Mikroinjektionsvorgang und durch den Abtrenn- und Katapultierprozess nicht geschädigt bzw. beeinträchtigt.

Im Prinzip kann der zuvor erläuterte Laser-induzierte Transportprozess, d.h. das Herauskatapultieren einzelner zuvor selektierter Objekte aus der jeweils umgebenden Masse, auch ohne vorhergehende Freipräparation des jeweils selektierten Objekts erfolgen, wenn die Laserenergie und/oder der Laserfokus im Moment des Setzens des separaten Laserschusses derart gewählt wird bzw. gewählt werden, dass die daraus resultierende Impulskraft dieses Laserschusses zum Herauslösen des entsprechenden Objekts aus der umgebenden Masse und für den Transportvorgang zu der Auffangvorrichtung ausreicht.

Da das zuvor beschriebene Verfahren manuell nur relativ aufwändig mit der gewünschten Präzision durchgeführt werden kann, sind die Laser-Mikrodissektionssysteme der obigen Druckschriften rechnergestützt ausgestaltet, d.h. das Aus-

- 3 -

schneiden und/oder Katapultieren eines selektierten Objekts erfolgt rechnergestützt, so dass die Laserlichtquelle, welche den zum Schneiden und/oder Katapultieren dienenden Laserstrahl erzeugt, automatisch angesteuert und die zum Schneiden und/oder Katapultieren erforderliche Relativbewegung zwischen dem Laserstrahl und dem die biologischen bzw. nichtbiologischen Objekte aufweisenden Träger automatisch herbeigeführt und gesteuert wird. Insbesondere ist eine rechnergestützte Selektion bzw. Markierung der auf dem Träger befindlichen gewünschten Objekte möglich, so dass diese nachfolgend automatisch mit dem Laser-Mikrodissektionssystem bearbeitet werden können. Das Laser-Mikrodissektionssystem umfasst hierzu einen Bildschirm bzw. Monitor, auf dem ein von einer digitalen Kamera aufgenommenes Videobild des auf dem Träger befindlichen Materials dargestellt wird. Der Benutzer kann auf dem Bildschirm bzw. dem Videobild beispielsweise mit Hilfe entsprechender Grafiktools eine gewünschte Schnittkurve zeichnen, welche anschließend rechnergestützt automatisch mit dem Laserstrahl nachgefahren wird, um das somit selektierte Objekt auszuschneiden. Auf ähnliche Art und Weise kann auf dem Bildschirm bzw. auf dem Videobild auch ein gewünschtes Objekt zum Herauskatapultieren markiert werden, wobei anschließend der separate Laserimpuls bzw. Laserschuss an der gewünschten Stelle gesetzt wird.

Obwohl bei den zuvor erläuterten bekannten Laser-Mikrodissektionssystemen bereits grundsätzlich eine rechnergestützte und automatisierte Verarbeitung des auf dem Träger befindlichen Materials gegeben ist, ist dennoch die Verarbeitung einer Vielzahl biologischer Objekte, welche insbesondere unterschiedlicher Art sein können, relativ aufwändig, da die Objekte entweder nur einzeln oder in ihrer Gesamtheit bearbeitet werden können.

- 4 -

Der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, ein Laser-Mikrodissektionssystem der zuvor beschriebenen Art bereitzustellen, bei dem die Benutzerfreundlichkeit und Funktionsvielfalt verbessert ist.

5

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch ein Laser-Mikrodissektionssystem mit dem Merkmalen des Anspruches 1 gelöst. Die Unteransprüche definieren jeweils bevorzugte und vorteilhafte Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung.

10

Die vorliegende Erfindung wird nachfolgend anhand des Schneidens und/oder Katapultierens biologischer Objekte beschrieben. Die Erfindung ist jedoch ebenso für nicht-biologische Objekte (unbelebte Materie) anwendbar, wobei es sich z.B. um mikroskopisch kleine Objekte aus Glas, Silica, Kunststoff etc. oder künstlich hergestellte Vesikel usw. in einer biologischen Masse handeln kann. Ebenso ist die vorliegende Erfindung auf nicht-biologische Massen oder Materialien, z.B. Polymermassen oder dergleichen, anwendbar, aus denen mikroskopisch kleine Objekte mit Hilfe des Laser-Mikrodissektionssystems herausgelöst werden sollen.

20

Das erfindungsgemäße Laser-Mikrodissektionssystem umfasst eine Laserlichtquelle zur Erzeugung eines Laserstrahls, der auf das auf einem entsprechenden Träger befindliche zu bearbeitende Material zu richten ist. Des Weiteren ist eine Bildaufnahmevorrichtung, beispielsweise mit einer CCD-Kamera, vorgesehen, welche ein Video- bzw. Abbild des auf dem Träger befindlichen Materials erzeugt und auf einer Anzeigenvorrichtung, beispielsweise einem Bildschirm, des Laser-Mikrodissektionssystems darstellt. Dieses Abbild wird mit einer Benutzerschnittstelle des Laser-Mikrodissektionssystems überlagert, um jeweils die gewünschten, mit dem Laserstrahl zu bearbeitenden Objekte auswählen und entsprechend den Objektgruppen zuordnen zu können. Das Laser-

30

35

- 5 -

Mikrodissektionssystem umfasst Steuermittel zum Auswerten der somit durchgeführten Benutzerauswahl und zum Erstellen einer Liste, in welcher die ausgewählten Objekte mit einer Angabe oder Bezeichnung der jeweils zugeordneten Objektgruppe derart
5 enthalten sind, dass unter Orientierung an der Objektgruppenangabe eine weitergehende Auswahl der Objekte und/oder eine objektgruppenspezifische Auswahl für eine nachfolgende Bearbeitung mit dem Laserstrahl möglich ist. Diese Steuermittel sind insbesondere in einem PC-Rechner oder Computer des Laser-Mikrodissektionssystems implementiert.
10

Zur Auswahl und zur Zuordnung der gewünschten, mit dem Laserstrahl zu bearbeitenden Objekte werden unterschiedliche Markierungsarten dem Benutzer zur Verfügung gestellt, so dass
15 der Benutzer auf der Anzeigenvorrichtung rechnergestützt beispielsweise durch entsprechende Wahl der Markierung das jeweils gewünschte Objekt einerseits festlegt und andererseits gleichzeitig der entsprechenden Objektgruppe zuordnet, wobei jeder Objektgruppe eine andere Markierung zugewiesen ist. So
20 können beispielsweise dem Benutzer unterschiedliche Farben für die Markierung der gewünschten Objekte angeboten werden, wobei der Benutzer mit Hilfe entsprechender graphischer Hilfsmittel z.B. eine Schnittlinie für ein auszuschneidendes biologisches Objekt auf der Anzeigenvorrichtung in der gewünschten Farbe zeichnen kann. Auf diese Weise ist es möglich,
25 auf der Anzeigenvorrichtung beispielsweise gesunde Zellen in einer ersten Farbe und Tumorzellen in einer zweiten Farbe zu markieren, wobei in der von den Steuermitteln erstellten Liste die einzelnen Objekte nach Farben sortiert und
30 zusammengefasst werden. Durch Auswählen einer Objektgruppe (welche von den Steuermitteln auf der Anzeigenvorrichtung vorzugsweise mit der entsprechenden Farbe angezeigt wird) ist es dann möglich, alle dieser Objektgruppe zugehörigen Objekte automatisch, d.h. rechnergestützt, zu bearbeiten, wobei die
35 entsprechenden Objekte nacheinander angefahren und mit Hilfe

- 6 -

- des Laserstrahls beispielsweise ausgeschnitten und/oder her-
auskatapultiert werden. Selbstverständlich ist anstelle der
Markierung mittels unterschiedlicher Farben auch jede andere
Art von unterscheidungskräftiger Markierung möglich. So kann
5 beispielsweise eine auf dem Videobild um ein gewünschtes Ob-
jekt herum gezeichnete Schnittlinie mit einem eindeuti-
gen Identifier, welcher die jeweils gewünschte Objektgruppe
identifiziert, überlagert werden etc.
- 10 Die Auswahl der in einer Objektgruppe zusammenzufassenden Ob-
jekte kann wie beschrieben sowohl manuell durch die Bedien-
person als auch automatisch und computergestützt durch digi-
tale Bildverarbeitung/Bildauswertung geschehen, wobei im
zweitgenannten Fall beispielsweise auf an sich bekannte Art
15 und Weise durch Fluoreszenzauswertung oder dergleichen zwis-
chen gesunden Zellen oder Tumorzellen etc. unterschieden
werden und eine Zuordnung zu einer entsprechenden Objektgrup-
pe automatisch erfolgen kann. Der hierin verwendete Begriff
Auswahlmittel umfasst somit sowohl eine manuelle Auswahl als
20 auch eine software- oder computergesteuerte automatische Aus-
wahl der gewünschten Objekte.

- Durch die zuvor beschriebene Vorgehensweise ist es möglich,
die zuvor ausgewählten und markierten Objekte mit dem Laser-
strahl gruppenspezifisch zu bearbeiten. D.h. es können bei-
25 spielsweise zunächst alle einer ersten Objektgruppe zugeord-
neten Objekte mit dem Laserstrahl bearbeitet werden, während
anschließend dann alle einer zweiten Objektgruppe zugeordne-
ten Objekte bearbeitet werden. Dies ermöglicht, dass sämtli-
che Objekte der ersten Objektgruppe in einem ersten Auffang-
behälter und sämtliche Objekte der zweiten Objektgruppe in
30 einem zweiten Auffangbehälter nach Durchführung des Schneide-
und/oder Katapultiervorgangs gesammelt werden können. Bei den
Objekten der ersten Gruppe kann es sich - wie bereits erwähnt
35 worden ist - beispielsweise um Tumorzellen handeln, während es

- 7 -

sich bei den Objekten der zweiten Gruppe beispielsweise um gesunde Zellen handeln kann. Die Separierung der gewünschten Objekte wird auf diese Weise für den Benutzer deutlich vereinfacht und beschleunigt.

5

Vorteilhafterweise kann infolge der gruppenspezifischen Laserbearbeitung für jede Objektgruppe eine unterschiedliche Laser-Bearbeitungsart ausgewählt und eingestellt werden. Hierzu werden von dem Laser-Mikrodissektionssystem mehrere unterschiedliche Laserfunktionen zur Verfügung gestellt, wobei insbesondere auch für jede Objektgruppe separat die Anzahl der Wiederholungen der voreingestellten Laser-Bearbeitung ausgewählt werden kann.

10
15 Die von den Steuermitteln des Laser-Mikrodissektionssystems erzeugte Liste, in welcher die von dem Benutzer zuvor ausgewählten Objekte gruppenweise zusammengefasst sind, umfasst vorzugsweise für jede Gruppe eine Angabe der Anzahl der darin enthaltenen Objekte sowie der Gesamtfläche der darin enthaltenen Objekte. Hierzu ist das Laser-Mikrodissektionssystem mit einer automatischen Flächenberechnungsfunktion ausgestattet, welche ermöglicht, dass nach dem Zeichnen einer Schnittlinie um ein gewünschtes Objekt automatisch die von dieser Schnittlinie eingeschlossene Fläche des somit ausgewählten Objekts berechnet wird. Auf diese Weise werden dem Benutzer wichtige zusätzliche Informationen über die bearbeiteten Objekte - aufgeteilt nach den jeweiligen Objektgruppen - zur Verfügung gestellt.

30 Neben dem zuvor erläuterten Listenabschnitt wird von den Steuermitteln vorzugsweise auch ein Listenabschnitt erzeugt und auf der Anzeigenvorrichtung dargestellt, welcher Informationen über jedes einzelne zu bearbeitende Objekt, über den jeweiligen Objekttyp, über die jeweilige Objektfläche
35 und/oder über die jeweils zugewiesene Objektgruppe enthalten

- 8 -

kann. Hinsichtlich des Objekttyps kann beispielsweise unterschieden werden, ob es sich um ein durch eine Schnittlinie definiertes Objekt oder lediglich um ein durch einen Katapultierpunkt definiertes Objekt handelt etc. Innerhalb dieses

- 5 Listenabschnitts kann jedes einzelne Objekt bzw. eine beliebige Auswahl der dargestellten Objekte markiert werden, um die entsprechend markierten Objekte anschließend gemeinsam mit der gewünschten Laserfunktion bearbeiten zu können.
- 10 Die von den Steuermitteln erzeugte Liste kann wahlweise auch nur den erstgenannten Listenabschnitt, in dem die ausgewählten Objekte objektgruppenweise zusammengefasst sind, oder nur den zweitgenannten Listenabschnitt, in dem die einzelnen ausgewählten Objekte enthalten sind, aufweisen. Wichtig
- 15 ist jedoch, dass in jedem Fall eine Objektgruppenangabe vorgesehen ist, um eine weitere Selektion anhand der Objektgruppenangabe zu ermöglichen.

- Die von den Steuermitteln erstellte Liste bzw. die darin enthaltenen Objektinformationen können in einem geeigneten Speichermedium bzw. in dem Arbeitsspeicher des Laser-Mikrodissektionssystems gespeichert werden. Dabei ist es vorteilhaft, für die ausgewählten Objekte eine Referenzposition auf dem entsprechenden Träger festzulegen, auf welche sich
- 20 die jeweiligen Objektpositionen der ausgewählten Objekte beziehen, so dass bei einer späteren Bearbeitung des entsprechenden Trägers und beim Laden der gespeicherten Objektinformationen ausgehend von der zuvor festgelegten Referenzposition ein einfaches Anfahren und Auffinden der hierzu relativ
- 25 abgespeicherten Objektpositionen möglich ist.
- 30

- Die Zusammenfassung der ausgewählten Objekte in Objektgruppen ermöglicht auch, dass nach der Laserbearbeitung der Objekte einer bestimmten Objektgruppe die Positionen der entsprechenden
- 35 Objekte auf dem Objektträger nochmals nacheinander ange-

- 9 -

fahren werden, um das ordnungsgemäße Ausschneiden oder Katapultieren der entsprechenden Objekte zu überprüfen, wobei dies sowohl durch die Bedienperson visuell durch Überprüfung der Schneide- oder Katapultierlinien auf dem Bildschirm als
5 auch automatisch durch computergestützte Auswertung der Schneide- oder Katapultierlinien mittels digitaler Bildverarbeitung oder Bildanalyse erfolgen kann.

Als Laserquelle des Laser-Mikrodissektionssystems wird vorzugsweise ein gepulster UV-Laser eingesetzt. Als Träger kann
10 ein Glas-Objekträger verwendet werden, welcher vorzugsweise mit einer Trägerfolie, bestehend aus einer UV-absorbierenden Polymerfolie mit einer Dicke zwischen beispielsweise 5 μm und 15 μm , beschichtet sein kann, wobei das Absorptionsverhalten
15 der Trägerfolie an die Wellenlänge des UV-Lasers angepasst ist und somit vorzugsweise in der Umgebung der Laserwellenlänge ein Absorptionsmaximum besitzt. Ebenso können als Träger auf Rahmen gespannte Trägerfolien bzw. Trägermembrane oder auch Teflonmembrane in Form von so genannten Petrischälchen etc. verwendet werden. Als Auffangvorrichtung zum Auf-
20 fangen bzw. Aufnehmen von aus dem zu bearbeitenden Material herausgelösten Objekten kann ein Auffangsubstrat verwendet werden, welches in Form einer Folie oder Platte oder auch in Form eines topfförmigen Behälters ausgebildet sein kann. Insbesondere werden als Auffangvorrichtung Mikrozentrifugenbe-
25 hälter empfohlen, wie sie in der Molekularbiologie verwendet werden, oder die Abdeckkappen („Caps“) davon, wobei insbesondere mehrere derartige Auffangbehälter nebeneinander angeordnet sein können, um nacheinander unterschiedliche Objekte in
30 unterschiedliche Auffangbehälter befördern zu können. Ebenso ist als Auffangvorrichtung beispielsweise der Einsatz einer Mikrotiterplatte mit einer Vielzahl von Vertiefungen („Wells“) möglich, so dass nacheinander mehrere Objekte von unterschiedlichen Vertiefungen aufgefangen werden können. Die
35 Auffangvorrichtung kann mit einer adhäsiven Schicht versehen

- 10 -

sein, so dass herausgelöste Objekte durch die Klebeschicht fixiert werden können. Vorzugsweise ist für den Träger und/oder die Auffangvorrichtung eine rechnergestützt ansteuerbare Verstellvorrichtung vorgesehen, um eine automatische
5 Positionierung dieser Einheiten zu ermöglichen.

Die Funktion der zuvor erläuterten erfindungsgemäßen Steuermittel ist insbesondere softwaremäßig in Form eines entsprechenden Steuerprogramms für das Laser-Mikrodissektionssystem
10 implementiert. Die vorliegende Erfindung betrifft somit nicht nur das Laser-Mikrodissektionssystem als solches, sondern auch die Ausgestaltung des entsprechenden Steuerprogramms bzw. das computerlesbare Speichermedium, welches dieses Steuerprogramm speichert.

15 Die vorliegende Erfindung wird nachfolgend näher unter Bezugnahme auf die beigefügte Zeichnung anhand bevorzugter Ausführungsbeispiele erläutert.

20 Figur 1 zeigt den Aufbau eines Laser-Mikrodissektionssystems gemäß einem bevorzugten Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung,

Figur 2 zeigt die Darstellung eines beispielhaften Bildschirmbilds des in Figur 1 gezeigten Laser-Mikrodissektionssystems zur Auswahl und Markierung gewünschter biologischer Objekte, und
25

Figur 3 zeigt beispielhaft eine Bildschirmdarstellung des in
30 Figur 1 gezeigten Laser-Mikrodissektionssystems mit einer Liste, in der von einem Benutzer zuvor ausgewählte und markierte biologische Objekte enthalten sind.

Das in Figur 1 gezeigte Laser-Mikrodissektionssystem umfasst
35 eine Laservorrichtung 4, in der eine Laserlichtquelle zur Er-

- 11 -

zeugung eines Laserstrahls untergebracht ist. Des Weiteren ist in der Laservorrichtung 4 eine Optik 6 untergebracht, die erforderlich ist, um den Laserstrahl in ein Mikroskop 1 einzukoppeln und den Laserfokus in der Objektebene auf den optischen Fokus des Mikroskops 1 abzustimmen. Im vorliegenden Fall handelt es sich beispielsweise um einen gepulsten UV-Stickstofflaser mit einer Wellenlänge von 337 nm, eine Impulsenergie von 270 μ J, einer Impulsdauer von 3 ms und einer Impulsfrequenz von 1-30 Impulsen/Sekunde.

10 Zur präzisen Verstellung der Laserenergie ist ein Quarzfilter 5 senkrecht zum Laserstrahlpfad angeordnet, der über ein (nicht gezeigtes) Steuerpaneel zur entsprechenden Einstellung der Laserenergie manuell oder auch automatisch verstellt werden kann. Neben der Einstellung der Laserenergie kann auch der Laserfokus unabhängig von dem Mikroskopfokus eingestellt werden, d.h. der Brennpunkt des Lasers kann in z-Richtung relativ zu der Objektebene des Mikroskops 1 verschoben werden, wobei zu diesem Zweck die in Figur 1 gezeigten Linsen 6 über einen Schrittmotor bewegt werden können. Auch diese Verstellung kann sowohl manuell als auch automatisch erfolgen.

Der Laserstrahl wird über mehrere beschichtete Strahlteiler in das Mikroskop 1 eingekoppelt und zu einem Objektiv 12 hin abgelenkt. Der Durchmesser des auf der Objektebene auftreffenden Laserstrahls ist maßgeblich von der numerischen Apertur des Objektivs 12 abhängig. Ein Objektiv mit einer relativ hohen numerischen Apertur ermöglicht Laserstrahldurchmesser kleiner als 1 μ m. Zudem sollte darauf geachtet werden, dass das jeweils verwendete Objektiv 12 eine hohe Durchlässigkeit für die jeweilige Laserwellenlänge aufweist, um Energieverluste zu minimieren.

Der über das Objektiv 12 emittierte Laserstrahl trifft schließlich auf einen motorisierten und computergesteuerten

- 12 -

Mikroskop- oder Trägertisch 3, auf dem ein Träger mit einem zu bearbeitenden biologischen Material angeordnet ist. Oberhalb des Trägertisches 3 befindet sich ein manuell betätigbarer oder vorzugsweise ebenfalls motorisierter und computergesteuerter Manipulator 2. Die Komponenten 2 und 3 ermöglichen eine exakte Objektpositionierung mit hoher Präzision sowie die automatische Durchführung von μ -Manipulationsprozeduren.

Der motorisierte Trägertisch 3 ist entlang zweier linearer Achsen (x/y-Richtung) verfahrbar. An dem motorisierten Manipulator 2 kann beispielsweise eine Nadel oder Mikropipette zur Mikroinjektion angebracht sein. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wird jedoch davon ausgegangen, dass an dem Manipulator 2 eine Auffangvorrichtung angebracht ist, um von dem Träger wegkatapultierte biologische Objekte aufzufangen. Der motorisierte Manipulator 2 kann sowohl in x/y-Richtung als auch in z-Richtung verfahren werden.

Bei dem Mikroskop 1 kann es sich um ein beliebig ausgestaltetes Mikroskop handeln. Insbesondere ist sowohl die Verwendung eines inversen als auch eines aufrechten Mikroskops oder eines Lasermikroskops denkbar. Bei dem in Figur 1 dargestellten Laser-Mikrodissektionssystem handelt es sich um einen inversen Aufbau, bei dem der Laserstrahl von unten auf den Träger trifft, um darauf befindliche biologische Objekte nach oben zu der Auffangvorrichtung zu katapultieren. Bei einem aufrechten Aufbau trifft hingegen der Laserstrahl von oben auf den Träger, so dass aus dem biologischen Material herausgelöste Objekte, in Abhängigkeit von der Laserenergie, nach unten auf die unterhalb des Trägers befindliche Auffangvorrichtung fallen oder katapultiert werden.

Das Mikroskop 1 ist mit einer Videokamera, insbesondere einer CCD-Videokamera („Charge Coupled Device“) ausgestattet, die den Bereich des Trägers 3 oberhalb des Objektivs 12 aufnimmt.

- 13 -

Das Videosignal dieser Videokamera wird einem handelsüblichen Computer („Personal Computer“) 7 zugeführt und dort verarbeitet, so dass das entsprechende Videobild in Echtzeit auf dem Bildschirm oder dem Monitor 8 des Computers 7 dargestellt werden kann. Ebenso ist ein Speichern einzelner Videobilder auf einem geeigneten Speichermedium des Computers 7 möglich. Des Weiteren kann mit dem Computer 7 auch ein analoger oder digitaler Videorecorder zum Aufzeichnen der von der Videokamera gelieferten Videobilder gekoppelt sein.

Wie nachfolgend näher beschrieben wird, sind auf dem Computer 7 bzw. durch die darauf ablaufende Software verschiedene Funktionen implementiert, die sowohl eine rechnergestützte, d.h. automatische, Ansteuerung der Laservorrichtung 4 als auch des Mikroskops 1 ermöglichen, so dass beispielsweise der Laser automatisch aktiviert und der Manipulator 2 bzw. der Trägertisch 3 automatisch verfahren werden können. Ebenso ermöglichen diese rechnergestützten Funktionen eine besonders benutzerfreundliche Auswahl und Bearbeitung gewünschter biologischer Objekte des auf dem Träger befindlichen biologischen Materials. Zur Einstellung bzw. Auswahl dieser Funktionen sind herkömmliche Eingabemittel, wie beispielsweise eine Tastatur 9 oder eine Computermaus 10, vorgesehen. Des Weiteren ist der Laservorrichtung 4 ein Fußschalter 11 zugeordnet, durch dessen Betätigung der Laser manuell aktiviert werden kann.

Nachfolgend sollen die bei dem in Figur 1 gezeigten Laser-Mikrodissektionssystem vorgesehenen Funktionen näher erläutert werden.

Nach dem Einschalten des Computers 7 wird auf dem Bildschirm 8 das von der Videokamera augenblicklich aufgenommene Mikroskopbild dargestellt, wie es beispielsweise in Figur 2 gezeigt ist. Der Laser-Zielpunkt 13 ist in Figur 2 mit einem

- 14 -

Kreuz dargestellt. Neben diesem Mikroskopbild werden auf dem Bildschirm softwaremäßig realisierte Einstellmöglichkeiten zur Einstellung der Laserenergie, des Laserfokus, der Laserfunktion, der Vergrößerung der verwendeten Objektivlinse 12, 5 zum Abspeichern des dargestellten Mikroskopbilds etc. oder Möglichkeiten zum Aufrufen weiterer Menüfenster dargestellt, auf die an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden soll. Das Steuerprogramm wird im Wesentlichen über die in Figur 1 gezeigte Computermaus 10 gesteuert, wobei jedoch die wesentlichen Funktionen auch durch entsprechende Tastenkombinationen der Tastatur 9 aufgerufen werden können. 10

Im Wesentlichen kann zwischen zwei unterschiedlichen Betriebsmodi unterschieden werden.

15 Im sogenannten Cursor-Modus können mit Hilfe der Maus 10 Menüs geöffnet, entsprechende Menüfunktionen ausgewählt und sogenannte Buttons angeklickt werden. Im Verfah-Modus werden hingegen Bewegungen der Maus 10 direkt in entsprechende Verstellsignale und somit entsprechende mechanische Bewegungen 20 des Trägartisches 3 oder des Manipulators 2 umgesetzt. Unterhalb des Mikroskopbildes kann ein Statusfenster angezeigt werden, welches u.a. anzeigt, ob sich die Steuerung augenblicklich im Cursor-Modus oder im Verfah-Modus befindet. 25 dieses Statusfenster kann zudem die X- und Y-Koordinaten anzeigen, welche die absolute Position (in μm) des Mikroskop- bzw. Trägartisches 3 bezogen auf eine Null-Position definieren.

30 Neben den zuvor erläuterten Funktionen werden zusätzlich zu dem Mikroskopbild so genannte Grafiktools auf dem Bildschirm 8 dargestellt, mit deren Hilfe auf dem Bildschirm 8 bzw. auf dem dargestellten Mikroskopbild Freihandlinien oder vorgegebene Figuren, wie beispielsweise Rechtecke, Kreise, gerade 35 Linien oder Ellipsen, gezeichnet werden können, so dass das

- 15 -

Mikroskopbild mit diesen grafischen Elementen überlagert auf dem Bildschirm 8 dargestellt wird. Zudem kann auf dem Bildschirm 8 eine Farbpalette dargestellt werden, so dass für jedes gezeichnete Element die gewünschte Farbe, welche auf dem
5 Bildschirm 8 erscheint, ausgewählt werden kann. Dabei wird die jeweils ausgewählte Farbe als Standardvorgabe („Default“) für alle Elemente des augenblicklich ausgewählten Elementtyps gespeichert. Auf diese Weise ist es möglich, unterschiedliche biologische Objekte des auf dem Träger 3 befindlichen biolo-
10 gischen Materials 14, welches in Form des Video- bzw. Mikroskopbilds auf dem Bildschirm 8 dargestellt wird, durch unterschiedliche Farben auszuwählen und zu markieren.

Bei dem in Figur 2 dargestellten Beispiel wird davon ausge-
15 gangen, dass der Benutzer mit Hilfe der zuvor erläuterten Grafiktools um zwei biologische Objekte eine Freihand-Schnittlinie 16 in einer ersten Farbe, welche in Figur 2 durch ein Quadrat angedeutet ist, gelegt hat. In einer zweiten Farbe, welche in Figur 2 durch einen Kreis angedeutet
20 ist, wurden zwei weitere Objekte mit Hilfe entsprechender Freihand-Schnittlinien markiert. Drei weitere Objekte wurden auf analoge Art und Weise durch eine Freihand-Schnittlinie in einer dritten Farbe, welche durch ein Dreieck angedeutet ist, selektiert bzw. markiert. In einer vierten Farbe, welche
25 durch einen Stern angedeutet ist, wurde schließlich eine weitere Freihand-Schnittlinie um ein weiteres biologisches Objekt gelegt, wobei jedoch im Gegensatz zu den zuvor erläuterten Freihand-Schnittlinien diese Freihand-Schnittlinie nicht ganz geschlossen ist. Die in Figur 2 gezeigten Schnittlinien
30 dienen nicht nur zur Markierung und Selektion der entsprechenden biologischen Objekte, sondern für die nachfolgende Laserbearbeitung des auf dem Trägertisch 3 befindlichen biologischen Materials 14 auch als Vorgabe für die automatische Relativbewegung zwischen dem Trägertisch 3 und dem Laserstrahl der Laservorrichtung 4, um den Laserstrahl entlang der
35

- 16 -

jeweils vorgegebenen Schnittlinie zu führen und somit das jeweils selektierte biologische Objekt von der umgebenden biologischen Masse frei zu präparieren.

- 5 Im Rahmen des vorliegenden Ausführungsbeispiels wird davon ausgegangen, dass die unterschiedlichen biologischen Objekte 15 für die nachfolgende Laserbearbeitung in unterschiedlichen Farben markiert werden, wobei alle in ein- und derselben Farbe markierten Objekte eine entsprechende Objektgruppe bilden.
- 10 Selbstverständlich ist jedoch auch abgesehen von der Verwendung unterschiedlicher Farben eine anderweitige Art der Markierung der einzelnen biologischen Objekte auf dem Bildschirm 8 möglich. So kann beispielsweise - wie in Figur 2 gezeigt ist - für jede Schnittlinie eine andere Art der grafischen
- 15 Darstellung (in Figur 2 mit einem Rechteck, Kreis, Dreieck oder Stern) gewählt werden. Von Bedeutung ist dies bezüglich lediglich, dass die Markierung jeweils derart gewählt wird, dass eine möglichst deutliche Unterscheidung der einzelnen Gruppen, in denen jeweils die biologischen Objekte mit derselben Markierung zusammengefasst sind, möglich ist.
- 20

- Bei dem in Figur 2 gezeigten Beispiel sind die zuvor erläuterten Grafiktools derart eingestellt, dass jedes mit einer Freihand-Schnittlinie 16 markiertes bzw. selektiertes biologisches Objekt mit einer durchlaufenden Nummer versehen ist, 25 welche auch auf dem Bildschirm 8 dargestellt wird. Die biologischen Objekte mit der Nummer „1“ und „2“, die biologischen Objekte mit der Nummer „3“ und „4“, die biologischen Objekte mit der Nummer „5“-„7“ und das biologische Objekt mit der Nummer „8“ bilden somit jeweils eine Objektgruppe. Die Anzeige dieser Nummern auf dem Bildschirm 8 kann wahlweise auch deaktiviert werden. Darüber hinaus umfasst die Software des Laser-Mikrodissektionssystems eine Funktion, mit welcher die Entfernung zwischen zwei auf dem Mikroskopbild ausgewählten 30 Punkten gemessen werden kann. So kann beispielsweise auf dem

- 17 -

Mikroskopbild ein Startpunkt ausgewählt werden, wobei automatisch die Messung der Entfernung zu diesem Startpunkt während der Bewegung der Maus 10 erfolgt, wenn eine entsprechende Maustaste der Maus 10 gedrückt gehalten wird. Ebenso kann die Software eine Funktion zur automatischen Berechnung des Flächeninhalts eines auf zuvor erläuterte Art und Weise selektierten bzw. markierten biologischen Objekts, welches von einer zuvor gezeichneten Schnittlinie 16 begrenzt ist, aufweisen. Der Flächeninhalt des jeweiligen biologischen Objekts wird dann beispielsweise in μm^2 auf dem Bildschirm 8 des Laser-Mikrodissektionssystems dargestellt. Als weitere Funktion können die Grafiktools des Laser-Mikrodissektionssystems auch eine „Radiergummi“-Funktion aufweisen, um zuvor auf dem Bildschirm 8 gezeichnete Grafikelemente wieder zu löschen. Ebenso kann über eine entsprechende Funktion an jeder beliebigen Stelle des auf dem Bildschirm 8 dargestellten Videobilds ein gewünschter Textkommentar eingefügt werden.

Die zuvor beschriebene Markierung bzw. Selektierung der gewünschten biologischen Objekte 15 dient dazu, die für die nachfolgende Laserbehandlung gewünschten biologischen Objekte auszuwählen, d.h. es werden diejenigen biologischen Objekte festgelegt, welche später automatisch freipräpariert und/oder zu der Auffangvorrichtung katapultiert werden sollen. Für die auf diese Weise ausgewählten biologischen Objekte wird jeweils ein Eintrag in einer Liste generiert, welche ebenfalls auf dem Bildschirm 8 dargestellt wird. Der Aufbau dieser Liste soll nachfolgend näher unter Bezugnahme auf Figur 3 erläutert werden.

In einem oberen Listenabschnitt von Figur 3 ist für jedes zuvor ausgewählte Objekt ein Eintrag bzw. ein Element vorhanden. In einer Spalte A sind die einzelnen ausgewählten bzw. markierten Objekt in der Reihenfolge ihrer Markierung analog zu Figur 2 durchnummeriert. In einer Spalte B ist für jedes

- 18 -

Element angegeben, um was für einen Typ es sich handelt, wobei insbesondere zwischen einem Typ „Line“ für eine Schnittlinie und einem Typ „Dot“ für einen einzelnen Katapultierpunkt, welche ebenfalls mit den vorgegebenen Grafiktools auf dem Videobild festgelegt werden kann, unterschieden wird. Bei dem in Figur 3 dargestellten Beispiel handelt es sich bei allen Elementen um vorgezeichnete Linien. Des Weiteren ist in einer Spalte C für jedes selektierte biologische Objekt die von der entsprechenden Schnittlinie eingeschlossene Fläche (vorzugsweise in μm^2) angegeben. In einer Spalte D kann zusätzlich wahlweise für jeden Eintrag ein entsprechender Kommentar eingefügt werden.

Wie aus Figur 3 ersichtlich ist, ist in einer weiteren Spalte 18 für jedes Element bzw. für jedes Objekt die bei der Selektion des jeweiligen Objekts gewählte Markierung oder Farbe angegeben.

Die Liste wird kontinuierlich auf den neuesten Stand gebracht. D.h. während der Markierung weiterer gewünschter biologischer Objekte durch den Benutzer auf dem Bildschirm 8 wird für jedes zusätzlich markierte biologische Objekt automatisch ein neuer Eintrag in der Liste generiert.

In einem unteren Listenabschnitt 29 ist eine zusammenfassende Aufstellung dargestellt, in welcher die Objekte nach Objektgruppen bzw. Markierungen/Farben sortiert und zusammengefasst sind. Dabei ist für jede Markierung/Farbe in einer Spalte F die Anzahl der jeweils enthaltenen Objekte und in einer Spalte G die Gesamtfläche der dieser Objektgruppe zugeordneten Objekte angegeben. Eine abschließende Zeile dieses Listenabschnitts 29 gibt Aufschluss über die Gesamtanzahl der Objekte sämtlicher Objektgruppen, d.h. die Gesamtanzahl sämtlicher markierter Objekte, und deren Gesamtfläche.

35

- 19 -

Bei dem in Figur 3 dargestellten Beispiel ist ein Auswahlfeld 19 aktiviert, wobei bei dessen Aktivierung lediglich Listeneinträge des Typs „Line“ dargestellt werden. Einträge des Typs „Dot“ oder auch Texteinträge etc. werden jedoch bei Aktivierung des Auswahlfelds 19 nicht dargestellt.

Durch Anklicken eines Buttons 20 kann die dargestellte Liste gespeichert und geschlossen werden. Durch Anklicken eines Buttons 21 kann hingegen die Liste ohne Abspeichern geschlossen und somit verworfen werden. Durch Anklicken eines Buttons 22 können sämtliche Elemente der Liste sowie deren Eigenschaften (z.B. Markierung/Farbe, Nummer oder Typ etc.) sowie die zusammenfassenden Werte in eine Datei exportiert werden.

Ein Button 23 ermöglicht das Abspeichern sämtlicher Elemente der dargestellten Liste in einer Datei, wobei insbesondere für jedes Element bzw. für jedes biologische Objekt auch die Position in Bezug auf eine zuvor gewählte Referenzposition des jeweiligen biologischen Materials gespeichert wird. Vor dem Abspeichern muss somit rechnergestützt diese Referenzposition des Trägers bzw. des darauf befindlichen biologischen Materials bestimmt werden. Diese Referenzposition ist notwendig, um bei einer erneuten Verwendung eines Objektträgers mit einem bereits zuvor untersuchten biologischen Material sicherzustellen, dass die dort ausgewählten und markierten biologischen Objekte korrekt angefahren bzw. positioniert werden können. Dabei kann für jeden Objektträger bzw. für jede Probe eine unterschiedliche Referenzposition bestimmt werden. Bei Einlegen des Objektträgers werden dann die gewünschten biologischen Objekte in Bezug auf die zuvor bestimmte Referenzposition angefahren, d.h. die für jedes Element bzw. für jedes ausgewählte biologische Objekt abgespeicherten Positionsdaten sind relative Positionsdaten, welche auf die zuvor bestimmte Referenzposition bezogen sind. Über eine entsprechende Softwarefunktion kann von dem Benutzer beim Festlegen der Referenzposition

- 20 -

renzposition auf dem dargestellten Mikroskopbild diese zugleich mit dem Laser in dem biologischen Material markiert werden, so dass später ein einfaches Auffinden der Referenzposition möglich ist.

5

Die Aktivierung eines Buttons 24 ermöglicht das Löschen sämtlicher Elemente der dargestellten Liste, während ein Button 28 lediglich das Löschen eines oder mehrerer ausgewählter Elemente der Liste erlaubt. Durch Anklicken eines Buttons 25 können die dann verbliebenen Elemente der Liste neu nummeriert werden.

Mit Hilfe eines Buttons 26 kann jedes einzelne biologische Objekt derart angefahren werden, dass es zentriert auf dem Bildschirm 8 erscheint. Zur zentrierten Darstellung des Objekts Nummer „5“ muss lediglich die entsprechende Zeile im oberen Listenabschnitt von Figur 3 mit der Maus 10 markiert und anschließend der Button 26 aktiviert werden.

20 Jedes einzelne Element bzw. jedes einzelne biologische Objekt kann separat mit dem Laserstrahl bearbeitet werden. Soll beispielsweise das biologische Objekt Nr. „5“ bearbeitet werden, muss lediglich der entsprechende Eintrag im oberen Listenabschnitt mit der Maus markiert und anschließend ein Laserstartbutton 30 aktiviert werden. Anschließend wird rechnergestützt der Laserstrahl durch eine geeignete Relativbewegung zwischen dem Laserstrahl und dem Trägertisch 3 auf der gewünschten und gemäß Figur 2 vorgezeichneten Schnittlinie des jeweiligen biologischen Objekts positioniert und entlang der vorgezeichneten Schnittlinie bewegt, um das biologische Objekt frei zu präparieren. Auf analoge Art und Weise können auch mehrere der ausgewählten biologischen Objekte markiert und anschließend durch Aktivierung des Laserstartbuttons 30 nacheinander abgearbeitet werden.

35

- 21 -

Von besonderem Vorteil ist jedoch, dass auch in dem unteren
Listenabschnitt 29 eine entsprechende Auswahl einzelner oder
mehrerer Objektgruppen vorgenommen werden kann, so dass nach
anschließender Aktivierung des Laserstartbuttons 30 nur die
5 der ausgewählten Objektgruppe bzw. den ausgewählten Objekt-
gruppen zugehörigen biologischen Objekte verarbeitet werden.

Sollen beispielsweise Tumorzellen in einem Auffangbehälter und
gesunde Zellen in einem weiteren Auffangbehälter platziert
10 werden, empfiehlt es sich, während des Abfahrens des gemäß
Figur 2 auf dem Bildschirm 3 dargestellten Mikroskopbilds die
gewünschten Zellen derart zu markieren, dass die Schnittli-
nien der Tumorzellen in einer ersten Farbe und die Schnittli-
nien der gesunden Zellen in einer zweiten Farbe gezeichnet
15 werden. So sei beispielsweise angenommen, dass für die Tumor-
zellen zur Markierung die Farbe Blau verwendet wird, während
für die gesunden Zellen zur Markierung die Farbe Gelb verwen-
det wird. In dem unteren Listenabschnitt 29 würde dann eine
Zeile mit einer Zusammenfassung der „blauen“ Tumorzellen und
20 eine Zeile mit der Zusammenfassung der „gelben“ gesunden Zel-
len erscheinen. Durch Markierung der „blauen“ Zeile („High-
lighting“), entsprechende Positionierung des Auffangbehälters
über dem Laserstrahl und anschließende Aktivierung des Laser-
starbuttons 30 werden anschließend sämtliche „blauen“ Tumor-
25 zellen mit dem Laserstrahl bearbeitet und - abhängig von der
in einem Auswahlfeld 32 eingestellten Laserfunktion - in den
Auffangbehälter katapultiert. Anschließend kann die „gelbe“
Zeile mit der Maus 10 markiert, ein neuer Auffangbehälter ü-
ber dem Laserstrahl positioniert und erneut der Laserstarbut-
30 ton 30 aktiviert werden, so dass in dem zweiten Auffangbehäl-
ter sämtliche „gelbe“ gesunde Zellen aufgefangen werden.

Diesbezüglich ist das Laser-Mikrodissektionssystem vorteil-
hafterweise derart ausgestaltet, dass die unterschiedlichen
35 Auffangbehälter für die einzelnen Objektgruppen und/oder Ob-

- 22 -

- jekte automatisch positioniert und somit in die Auffangposition bewegt werden, d.h. vor der Bearbeitung der Objekte einer ausgewählten Objektgruppe wird jeweils automatisch ein entsprechender Auffangbehälter in die Auffangposition bewegt, so dass die Objekte ein und derselben Objektgruppe jeweils in ein und demselben Auffangbehälter gesammelt werden, was die Aufbewahrung und die nachfolgende Analyse dieser Objekte erleichtert.
- 10 In dem oberen Listenabschnitt ist neben der Spalte 18 eine weitere Spalte 17 vorgesehen, in der für jedes Element bzw. für jedes biologische Objekt der Bearbeitungsstatus angezeigt wird. Sobald ein biologisches Objekt nach Aktivierung des Laserstartbuttons 30 mit dem Laserstrahl bearbeitet worden ist, wird die diesem biologischen Objekt bzw. diesem Listeneintrag entsprechende „Checkbox“ markiert.
- 20 Für jede Aktivierung des Laserstartbuttons 30 kann die Anzahl der Wiederholungen der Laserbehandlung durch Eingabe eines entsprechenden Werts in ein weiteres Auswahlfenster 31 eingegeben werden. Bei dem in Figur 3 gezeigten Beispiel ist lediglich eine einfache Durchführung der gemäß dem Auswahlfenster 32 eingestellten Laserfunktion vorgesehen.
- 25 Wie bereits zuvor kurz erläutert worden ist, kann mit Hilfe des Auswahlfensters 32 für jede Laserbearbeitung eine bestimmte von mehreren vorgegebenen Laserfunktionen ausgewählt werden. Mit der gemäß Figur 3 voreingestellten Laserfunktion „RoboLPC“ wird bei Aktivierung des Laserstartbuttons 30 automatisch die vorgezeichnete Schnittlinie des jeweiligen biologischen Objekts bis auf einen vorgegebenen Reststeg abgefahren und anschließend ein separater Laserschuss auf die Mitte dieses Reststegs gesetzt, um das gewünschte biologische Objekt aus der umgebenden biologischen Masse heraus in den Auffangbehälter zu katapultieren. Wurde beim Vorzeichnen der
- 35

- 23 -

Schnittlinie - wie bei dem in Figur 2 gezeigten biologischen Objekt mit der Nr. „8“ - die Schnittlinie weiter offengelassen als es der in dem System voreingestellten Breite dieses Reststegs entsprechen würde, wird automatisch diese überdimensionierte Lücke durch eine gerade Linie auf die vorgegebene Breite des Reststegs reduziert.

Eine weitere Laserfunktion „LPC“ kann beispielsweise zum Setzen separater Katapultier-Laserschüsse vorgesehen sein, d.h. ohne vorhergehende Freipräparation wird an der gewünschten Stelle ein Laserschuss gesetzt, um das entsprechende biologische Objekt herauszukatapultieren. Bei bestimmten Präparationen, wie beispielsweise zytozentrifugierten Zellen, kann dieser separat gesetzte Laserschuss bereits zum Herauskatapultieren ausreichen. Eine weitere Laserfunktion „Cut“ kann lediglich zum Schneiden entlang der vorgezeichneten Schnittlinie vorgesehen sein, ohne dass ein anschließender Katapultier-Laserschuss gesetzt wird. Der Laserschuss kann dann separat an einer gewünschten Stelle auf dem freipräparierten biologischen Objekt mit Hilfe der zuvor erläuterten Laserfunktion gesetzt werden. Auch bei dieser reinen Schneidefunktion wird vorzugsweise das jeweilige biologische Objekt nicht vollständig freipräpariert, sondern es wird ein schmaler Reststeg vorgegebener Breite stehengelassen. Eine weitere vorgesehene Laserfunktion „CloseCut“ kann der zuvor erläuterten Schneidefunktion entsprechen, wobei jedoch die vorgezeichnete Schnittlinie mit dem Laserstrahl vollständig abgefahren wird, um das jeweilige biologische Objekt vollständig frei zu präparieren. Wurde die Schnittlinie von dem Benutzer nicht vollständig geschlossen, werden der Start- und Endpunkt der Schnittlinie durch eine gerade Linie von dem Laser-Mikrodissektionssystem verbunden, um eine geschlossene Schnittlinie zu erhalten. Eine weitere über das Auswahlfenster 32 einstellbare Laserfunktion „AutoLPC“ kann zum Abtragen einer zuvor auf dem Mikroskopbild markierten Fläche bzw. ei-

- 24 -

- nes zuvor markierten biologischen Objekts vorgesehen sein. Bei Auswahl dieser Laserfunktion wird der Bereich innerhalb der vorgezeichneten Linie durch eine Vielzahl von nacheinander gesetzten Laserschüssen abgetragen und in den entsprechenden Auffangbehälter katapultiert. Die Anzahl der Laserschüsse pro Flächeneinheit kann dabei über ein entsprechendes Menü des Laser-Mikrodissektionssystems eingestellt werden. Eine weitere Laserfunktion „CloseCut & AutoLPC“ sieht schließlich eine Kombination der beiden zuvor erläuterten Laserfunktionen vor, d.h. das gewünschte biologische Objekt wird zunächst mit Hilfe einer vollständig geschlossenen Schnittlinie von der umgebenden biologischen Masse separiert und anschließend durch eine Vielzahl von nacheinander gesetzten Laserschüssen abgetragen und in den Auffangbehälter transportiert. Diese Vorgehensweise ist insbesondere dann sinnvoll, wenn der Benutzer jede Gefahr einer Kontaminierung des abzutragenden biologischen Materials durch benachbartes biologisches Material ausschließen will.
- 20 Für jeden Laserbearbeitungsvorgang, d.h. für jede Aktivierung des Laserstartbuttons 30, kann somit die Laserfunktion über das Auswahlfenster 32 und die Anzahl der Wiederholungen dieser Laserfunktion über das Auswahlfenster 31 eingestellt werden. Andererseits kann für jede Aktivierung des Laserstartbut-
- 25 tons 30 durch entsprechende Markierung der gewünschten Elemente bzw. Objekte oder Objektgruppen in der dargestellten Liste ausgewählt werden, ob sich der entsprechende Vorgang auf einzelne Objekte oder ganze Objektgruppen erstrecken soll.
- 30 Wie bereits zuvor erwähnt worden ist, wird in der Spalte 17 für jedes bearbeitete Objekt die entsprechende „Checkbox“ gesetzt, sobald die Bearbeitung für dieses Objekt abgeschlossen worden ist. Zugleich wird in einer Spalte E die Anzahl der

- 25 -

für das entsprechende Objekt durchgeführten Schneide- oder Katapultiertvorgänge festgehalten und dargestellt.

- Die zuvor erläuterte Ausgestaltung des Laser-
5 Mikrodisektionssystems ermöglicht beispielsweise, dass die
in unterschiedlichen Objektgruppen zusammengefassten biologischen
Objekte auf unterschiedliche Art und Weise mit dem Laser
bearbeitet werden. So kann beispielsweise für die Objekte
einer ersten Objektgruppe lediglich die Schneide-
10 Laserfunktion eingestellt sein, während für die Objekte einer
zweiten Objektgruppe die in Figur 3 voreingestellte „RoboLPC“-
Laserfunktion vorgesehen ist. Auf diese Weise wird ein
größtmögliches Maß an Flexibilität erzielt.

15

PATENTANSPRÜCHE

1. Laser-Mikrodissektionssystem zur Bearbeitung eines auf einem Träger (3) befindlichen Materials (14),
mit einer Laserlichtquelle (4) zur Erzeugung eines auf das zu bearbeitende Material (14) zu richtenden Laserstrahls, um das Material (14) mit dem Laserstrahl zu bearbeiten,
mit einer Bildaufnahmevorrichtung (1) zur Erzeugung eines Ab-
bilds wenigstens eines Abschnitts des auf dem Träger (3) befindlichen Materials,
mit einer Anzeigenvorrichtung (8) zur Darstellung des von der Bildaufnahmevorrichtung (1) erzeugten Abbilds,
mit Auswahlmitteln (9, 10) zum Auswählen von mit dem Laserstrahl zu bearbeitenden Objekten (15) des auf dem Träger (3) befindlichen Materials (14) und zum Zuordnen des jeweils ausgewählten Objekts zu einer entsprechenden Objektgruppe, und
mit Steuermitteln (7) zum Auswerten der mit Hilfe der Auswahlmittel (9, 10) durchgeführten Auswahl der zu bearbeitenden Objekte (15) und zum Erstellen einer Liste, in welcher die ausgewählten Objekte und/oder die Objektgruppen mit einer Bezeichnung der jeweils entsprechenden Objektgruppe enthalten sind,
wobei über die Auswahlmittel (9, 10) eine beliebige Objektgruppe in der Liste auswählbar ist und die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie eine Bearbeitung der der ausgewählten Objektgruppe zugeordneten Objekte (15) gruppenspezifisch mit dem Laserstrahl veranlassen.
2. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,
dass ein zu bearbeitendes Objekt (15) durch entsprechende Markierung des Objekts auf dem von der Anzeigenvorrichtung (8) dargestellten Abbild des auf dem Träger (3) befindlichen Materials auswählbar ist, und

- 27 -

dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie unterschiedliche Markierungsarten zur Verfügung stellen, wobei jede Markierungsart einer Objektgruppe zugeordnet ist, so dass alle mit einer bestimmten Markierungsart markierten und
5 ausgewählten Objekte (15) eine entsprechende Objektgruppe bilden.

3. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet,
10 dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie die Liste mit einem Listenabschnitt (29) erstellen, in dem die ausgewählten Objekte (15) in den entsprechenden Objektgruppen zusammengefasst sind.

15 4. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Liste mit dem Listenabschnitt (29) von den Steuermitteln (7) auf der Anzeigenvorrichtung (8) dargestellt wird, und
20 dass über die Auswahlmittel (9, 10) die Objektgruppe in dem Listenabschnitt (29) auswählbar ist und die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie eine Bearbeitung der ausgewählten Objektgruppe zugeordneten Objekte (15) mit dem Laserstrahl veranlassen.

25 5. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 2 und Anspruch 3 oder 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass in
30 dem Listenabschnitt (29) der Liste für jede Objektgruppe die bei der Auswahl der entsprechenden Objekte (15) verwendete Markierung angegeben ist.

6. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der Ansprüche 3-5, 35 dadurch gekennzeichnet,

- 28 -

dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass in dem Listenabschnitt (29) der Liste zu jeder Objektgruppe die Anzahl der dieser Objektgruppe zugeordneten Objekte enthalten ist.

5

7. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der Ansprüche 3-6, dadurch gekennzeichnet, dass die Steuermittel (7) eine Flächenberechnungsfunktion zur Berechnung der Fläche eines über die Auswahlmittel (9,10) ausgewählten Objekts (15) umfassen, und dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass in dem Listenabschnitt (29) der Liste zu jeder Objektgruppe die Gesamtfläche aller der entsprechenden Objektgruppe zugeordneten Objekte enthalten ist.

15

8. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie die Liste mit einem Listeneintrag mit Objektinformationen zu den einzelnen über die Auswahlmittel (9, 10) ausgewählten und mit dem Laserstrahl zu bearbeitenden Objekten (15) erzeugen.

25

9. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass ein zu bearbeitendes Objekt (15) durch Markieren des entsprechenden Objekts über die Auswahlmittel (9, 10) auf dem von der Anzeigenvorrichtung (8) dargestellten Abbild des auf dem Träger (3) befindlichen Materials auswählbar ist, dass die Steuermittel (7) zum Markieren der zu bearbeitenden Objekte (15) unterschiedliche Markierungsarten zur Verfügung stellen, und dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass jeder Listeneintrag eines ausgewählten und mit dem Laserstrahl zu bearbeitenden Objekts (15) eine Darstellung der zur Mar-

35

- 29 -

kierung des jeweiligen Objekts verwendeten Markierungsart enthält.

10. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 8 oder 9,
5 dadurch gekennzeichnet,
dass die Steuermittel (7) eine Flächenberechnungsfunktion zur Berechnung der Fläche eines über die Auswahlmittel (9, 10) ausgewählten und mit dem Laserstrahl zu bearbeitenden Objekts (15) umfassen, und
10 dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie die Listeneinträge mit Objektinformationen, welche zu den ausgewählten Objekten (15) die jeweilige Objektfläche angeben, erzeugen.
- 15 11. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der Ansprüche 8-10,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass jeder Listeneintrag eine Angabe darüber enthält, ob das ent-
20 sprechende Objekt (15) bereits mit dem Laserstrahl bearbeitet worden ist oder nicht.
12. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der Ansprüche 8-11,
25 dadurch gekennzeichnet,
dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass die Listeneinträge der von den Steuermitteln (7) erzeugten Liste eine Angabe zu dem Typ des entsprechenden Objekts (15) enthalten.
- 30 13. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der Ansprüche 8-12,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Steuermittel (7) die Liste auf der Anzeigenvorrichtung (8) darstellen,
35

- 30 -

dass über die Auswahlmittel (9, 10) ein beliebiger Listeneintrag der auf der Anzeigenvorrichtung (8) dargestellten Liste auswählbar ist, und

- 5 dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie eine Bearbeitung der den ausgewählten Listeneinträgen entsprechenden Objekte (15) durch den Laserstrahl veranlassen.

14. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

- 10 dadurch gekennzeichnet,

dass die Steuermittel (7) bei Vorliegen einer entsprechenden Auswahl über die Auswahlmittel (9, 10) eine Bearbeitung von über die Auswahlmittel (9, 10) in der Liste ausgewählten Objekten (15) oder Objektgruppen mit dem Laserstrahl gemäß einer über die Auswahlmittel (9, 10) auswählbaren Laserfunktion veranlassen.

15. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet,

- 20 dass über die Auswahlmittel (9, 10) die jeweils gewünschte Laserfunktion aus einer Gruppe von vorgegebenen Laserfunktionen auswählbar ist, wobei die Gruppe von Laserfunktionen mindestens eine erste Laserfunktion zum Schneiden mit dem Laserstrahl entlang einer über die Auswahlmittel (9, 10) vorgegebenen Schnittlinie und eine zweite Laserfunktion zum Setzen eines Laserschusses an einer über die Auswahlmittel (9, 10) vorgegebenen Position auf dem auf dem Träger (3) befindlichen Material (14) umfasst.

- 30 16. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 14 oder 15, dadurch gekennzeichnet, dass über die Auswahlmittel (9, 10) die Anzahl der Wiederholungen der Bearbeitung der über die Auswahlmittel (9, 10) ausgewählten Objekte (15) oder Objektgruppen mit dem Laserstrahl einstellbar ist.
- 35

- 31 -

17. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
5 dass die Steuermittel (7) eine Flächenberechnungsfunktion zur Berechnung der Fläche eines über die Auswahlmittel (9, 10) ausgewählten Objekts (15) umfassen, und
dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie die Liste mit einer Angabe über die Gesamtanzahl sämtlicher
10 über die Auswahlmittel (9, 10) ausgewählter Objekte und mit einer Angabe über die Gesamtfläche der über die Auswahlmittel (9, 10) ausgewählten Objekte erzeugen.
18. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
15 dadurch gekennzeichnet,
dass über die Auswahlmittel (9, 10) ein mit dem Laserstrahl zu bearbeitendes Objekt (15) durch entsprechende Markierung des zu bearbeitenden Objekts (15) auf dem auf der Anzeigenvorrichtung (8) dargestellten Abbild des auf dem Träger (3)
20 befindlichen Materials ausgewählt wird,
dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie zur Markierung der zu bearbeitenden Objekte (15) unterschiedliche Markierungsarten zur Verfügung stellen und alle über
25 die Auswahlmittel (9, 10) mit derselben Markierungsart markierten Objekte (15) einer entsprechenden Objektgruppe zuordnen, so dass jede Objektgruppe mit ein- und derselben Markierungsart markierte Objekte umfasst.
- 30 19. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 18,
dadurch gekennzeichnet,
dass die unterschiedlichen Markierungsarten unterschiedliche Markierungsfarben, mit denen die zu bearbeitenden Objekte (15) auf dem auf der Anzeigenvorrichtung (8) dargestellten

- 32 -

Abbild des auf dem Träger (3) befindlichen Materials markiert werden, sind.

20. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der vorhergehen-
5 den Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Liste in Speichermitteln speicherbar ist.

21. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 20,
10 dadurch gekennzeichnet,
dass die Steuermittel (7) eine Funktion zur Bestimmung einer
Referenzposition auf dem auf dem Träger (3) befindlichen Ma-
terial umfassen, und
dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie
15 beim Abspeichern der Liste in den Speichermitteln Positionen
der ausgewählten Objekte in dem auf dem Träger (3) befindli-
chen Material in Bezug auf die Referenzposition abspeichern.

22. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 21,
20 dadurch gekennzeichnet,
dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie
eine Funktion (26) zum gezielten Anfahren eines in der Liste
enthaltenen ausgewählten Objekts (15) umfassen, wobei die
Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie die Posi-
25 tion des entsprechenden Objekts (15) in Bezug auf die Referenzposition ermitteln und ausgehend von der Referenzposition
eine Verstellung des Trägers (3) derart veranlassen, dass das
entsprechende Objekt (15) des auf dem Träger (3) befindlichen
Materials an einer bestimmten Stelle in dem auf der Anzeigen-
30 vorrichtung (8) dargestellten Abbild erscheint.

23. Computerlesbares Speichermedium, in dem ein Steuerpro-
gramm zum computergestützten Steuern eines Laser-
Mikrodissektionssystems zur Bearbeitung eines auf einem Trä-
35 ger (3) befindlichen Materials (14) gespeichert ist,

- 33 -

wobei das Laser-Mikrodissektionssystem umfasst:

- eine Laserlichtquelle (4) zur Erzeugung eines auf das zu bearbeitende Material (14) zu richtenden Laserstrahls, um das Material (14) mit dem Laserstrahl zu bearbeiten,
- 5 - eine Bildaufnahmevorrichtung (1) zur Erzeugung eines Abbilds wenigstens eines Abschnitts des auf dem Träger (3) befindlichen Materials (14),
- eine Anzeigenvorrichtung (8) zur Darstellung des von der Bildaufnahmevorrichtung (1) erzeugten Abbilds, und
- 10 - Auswahlmittel (9, 10) zum Auswählen von mit dem Laserstrahl zu bearbeitenden Objekten (15) des auf dem Träger (3) befindlichen Materials (14) und zum Zuordnen des jeweils ausgewählten Objekts zu einer entsprechenden Objektgruppe,

- 15 wobei das Steuerprogramm derart eingereicht ist, dass es bei Ausführung in dem computergestützt gesteuerten Laser-Mikrodissektionssystem die mit Hilfe der Auswahlmittel (9, 10) durchgeführte Auswahl der zu bearbeitenden Objekte (15) auswertet, eine auf der Anzeigenvorrichtung (8) darstellbare
- 20 Liste erstellt, in welcher die ausgewählten Objekte und/oder die Objektgruppen mit einer Bezeichnung der jeweils entsprechenden Objektgruppe enthalten sind, und bei Auswahl einer beliebigen Objektgruppe in der Liste über die Auswahlmittel (9, 10) eine Bearbeitung der der ausgewählten Objektgruppe
- 25 zugeordneten Objekte (15) gruppenspezifisch mit dem Laserstrahl veranlasst.

24. Computerlesbares Speichermedium nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet,

- 30 dass das Steuerprogramm derart eingerichtet ist, dass es bei Ausführung in dem computergestützt gesteuerten Laser-Mikrodissektionssystem die Funktion der Steuermittel (7) des Laser-Mikrodissektionssystems nach einem der Ansprüche 1-22 ausführt.

35

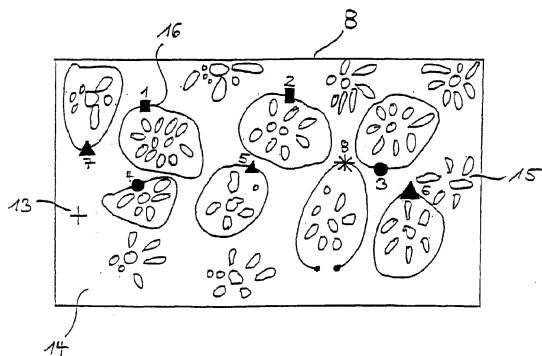
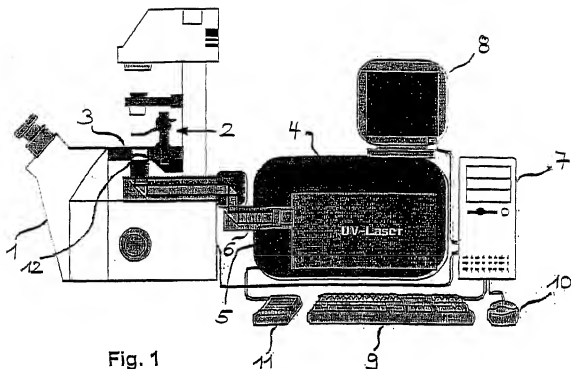


Fig. 2

	A	B	C	D	E
<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	1	Line	7640		
<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	2	Line	7350		
<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	3	Line	6800		
<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	4	Line	4245		
<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	5	Line	5111		
<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	6	Line	6450		
<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	7	Line	6240		
<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	8	Line	7440		

17
18

19 ☒

20 OK

21 Cancel

22 Export

24 Delete ALL

25 Renumber

23 Save

26 Goto

27 Change

28 Delete

	F	G
<input checked="" type="checkbox"/>	2	14950
<input checked="" type="checkbox"/>	2	11045
<input checked="" type="checkbox"/>	3	17801
<input checked="" type="checkbox"/>	1	7440
Σ	8	51276

29

30

31

32

1 X

RobotPC

Fig. 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/EP 02/11073

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 GOIN1/28 GOIN1/04 G02B21/26

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 GOIN G02B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 01 73398 A (SCHUETZE KARIN ; P A L M MICROLASER TECHNOLOGIE (DE); SCHUETZE RAIM) 4 October 2001 (2001-10-04) the whole document ---	1-24
A	US 4 907 158 A (KETTLER ALBRECHT ET AL) 6 March 1990 (1990-03-06) column 1, line 16 -column 1, line 34; claim 1; figure 1 ---	1-24
A	EP 0 539 888 A (SHIMADZU CORP) 5 May 1993 (1993-05-05) column 3, line 25 -column 7, line 40; figure 1 ---	1-24
A	DE 100 15 157 A (P A L M GMBH) 18 October 2001 (2001-10-18) the whole document ---	1-24
	--- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

S document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 January 2003

Date of mailing of the international search report

05/02/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2200 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Thomte, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/EP 02/11073

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2001/001574 A1 (BAER THOMAS M ET AL) 24 May 2001 (2001-05-24) the whole document -----	1-24

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International Application No.
PCT/EP 02/11073

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0173398	A	04-10-2001	DE 10015157 A1	18-10-2001
			WO 0173397 A1	04-10-2001
			WO 0173398 A1	04-10-2001
			EP 1269142 A1	02-01-2003
			EP 1269143 A1	02-01-2003
US 4907158	A	06-03-1990	DE 3718066 A1	08-12-1988
			AT 91501 T	15-07-1993
			DE 3882283 D1	19-08-1993
			EP 0292899 A2	30-11-1988
			JP 1003560 A	09-01-1989
			JP 2553150 B2	13-11-1996
EP 0539888	A	05-05-1993	JP 3067347 B2	17-07-2000
			JP 5127099 A	25-05-1993
			DE 69210753 D1	20-06-1996
			DE 69210753 T2	02-10-1996
			EP 0539888 A1	05-05-1993
			US 5348883 A	20-09-1994
DE 10015157	A	18-10-2001	DE 10015157 A1	18-10-2001
			WO 0173397 A1	04-10-2001
			WO 0173398 A1	04-10-2001
			EP 1269142 A1	02-01-2003
			EP 1269143 A1	02-01-2003
US 2001001574	A1	24-05-2001	AU 6150398 A	26-08-1998
			EP 0958491 A1	24-11-1999
			JP 2001526795 T	18-12-2001
			US 6184973 B1	06-02-2001
			WO 9835216 A1	13-08-1998
			US 6215550 B1	10-04-2001
			US 2002154288 A1	24-10-2002
			US 2002001074 A1	03-01-2002

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDEGEGENSTANDES

IPK 7 GOIN1/28 GOIN1/04 G02B21/26

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 GOIN G02B

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 01 73398 A (SCHUETZE KARIN ; P A L M MICROLASER TECHNOLOGIE (DE); SCHUETZE RAIM) 4. Oktober 2001 (2001-10-04) das ganze Dokument ---	1-24
A	US 4 907 158 A (KETTLER ALBRECHT ET AL) 6. März 1990 (1990-03-06) Spalte 1, Zeile 16 -Spalte 1, Zeile 34; Anspruch 1; Abbildung 1 ---	1-24
A	EP 0 539 888 A (SHIMADZU CORP) 5. Mai 1993 (1993-05-05) Spalte 3, Zeile 25 -Spalte 7, Zeile 40; Abbildung 1 ---	1-24
A	DE 100 15 157 A (P A L M GMBH) 18. Oktober 2001 (2001-10-18) das ganze Dokument --- -/-	1-24

☒ Weiteres Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

C Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

** Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

** Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

29. Januar 2003

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

05/02/2003

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
 Europäisches Patentamt, P.B. 5816 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Beauftragter

Thomte, M

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beitr. Anspruch Nr.
A	US 2001/001574 A1 (BAER THOMAS M ET AL) 24. Mai 2001 (2001-05-24) das ganze Dokument -----	1-24

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT
Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Information Aktenzeichen
PCT/EP 02/11073

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 0173398 A	04-10-2001	DE 10015157 A1	18-10-2001
		WO 0173397 A1	04-10-2001
		WO 0173398 A1	04-10-2001
		EP 1269142 A1	02-01-2003
		EP 1269143 A1	02-01-2003
US 4907158 A	06-03-1990	DE 3718066 A1	08-12-1988
		AT 91501 T	15-07-1993
		DE 3882283 D1	19-08-1993
		EP 0292899 A2	30-11-1988
		JP 1003560 A	09-01-1989
		JP 2553150 B2	13-11-1996
EP 0539888 A	05-05-1993	JP 3067347 B2	17-07-2000
		JP 5127099 A	25-05-1993
		DE 69210753 D1	20-06-1996
		DE 69210753 T2	02-10-1996
		EP 0539888 A1	05-05-1993
		US 5348883 A	20-09-1994
DE 10015157 A	18-10-2001	DE 10015157 A1	18-10-2001
		WO 0173397 A1	04-10-2001
		WO 0173398 A1	04-10-2001
		EP 1269142 A1	02-01-2003
		EP 1269143 A1	02-01-2003
US 2001001574 A1	24-05-2001	AU 6150398 A	26-08-1998
		EP 0958491 A1	24-11-1999
		JP 2001526795 T	18-12-2001
		US 6184973 B1	06-02-2001
		WO 9835216 A1	13-08-1998
		US 6215550 B1	10-04-2001
		US 2002154288 A1	24-10-2002
		US 2002001074 A1	03-01-2002